

木毒蛾核多角体病毒病的初步研究*

福建林学院林学系森保教研组

福建省林业科学研究所森保组

平潭县林业技术推广站

木毒蛾 (*Lymantria xyliana* Swinhoe) 属鳞翅目毒蛾科, 是福建省沿海木麻黄 (*Casuarina* sp.) 防护林的一种重要害虫。近年来在4—6月间, 特别是在5月底至6月初, 木麻黄林内出现大量木毒蛾幼虫自然感病死亡, 经鉴定主要病原体是核多角体病毒。现将其形态, 感染力测定和病毒保存等试验结果报告如下。

材 料 和 方 法

试验用病毒: 从木麻黄林内采集病死虫尸, 捣烂加无菌水配成悬液, 喂饲健康幼虫使之感病, 将病死虫尸和濒死病虫经酒精灯火焰体表消毒, 捣烂加无菌水配成悬液, 二层纱布过滤后, 置冰箱备用。

幼虫组织病变观察: 将室内感染的5—6龄濒死幼虫解剖后, 取各部位组织细胞作涂片, 染色后光学显微镜下观察、拍照。

多角体的提纯与电镜观察: 冰箱备用病毒悬液以200—500转/分离心3—5分钟, 除去组织碎片及杂质, 将清液用无菌水配成 5×10^7 多角体/毫升的悬液。取20毫升经2,500转/分离心10分钟, 取沉物为较纯多角体, 加入2毫升0.025M Na_2CO_3 , 室温下溶解15分钟后, 4,000转/分离心30分钟, 除去不溶解物, 取上清液滴在载网上, 2%磷钨酸负染, Hu-12A电镜观察并拍照。将提纯的多角体沉淀放于35℃—40℃温箱中干燥24—48小时, 用甲基丙烯酸脂包埋, 超薄切片厚度约500Å。以2%醋酸铀染色1.5小时, 再在柠檬酸铅溶液中复染15分钟, 干后用Hu-12A电镜观察并拍照。

感染试验: 供试幼虫系林间采集的健康幼虫。室温下以不同浓度的核多角体悬液涂抹木麻黄小枝, 晾干后喂饲, 24小时后换喂无病毒新鲜木麻黄小枝, 逐日检查死亡情况, 死虫经镜检以体内含有大量多角体者计为病毒死亡, 求出 LC_{50} 。林间感染试验是以 4×10^7 多角体/毫升悬液喷洒木麻黄至出现水滴为止, 然后套笼观察, 每笼供试幼虫20头, 逐日检查死亡情况。

病毒贮存: (1) 将病毒虫尸装入消毒的瓶内密封, 置0—4℃冰箱冷藏; (2) 病毒浓悬液在消毒瓶内密封置冰箱冷藏; (3) 将病死虫尸用35℃温箱烘干, 装消毒瓶内密封, 置室温贮藏; (4) 将病毒虫尸装消毒瓶内加无菌水, 在-5℃下使虫尸冻结于冰块内, 置

本文于1977年8月收到。

*福州市计量测试所电镜室与中山大学电镜室拍摄照片。本文由福建林学院谢卿桐执笔。

冰箱贮藏。

试 验 结 果

症状：幼虫感病初期食欲减退，个别有腹泻现象，表现烦躁，四处乱爬，继之行动迟缓，体表失去光泽，死亡前一天停止取食。死虫以臀足抓住小枝倒挂或以腹足吊挂(图版 I-1)。组织液化，皮肤脆弱易破，溢出乳白色，略带腥味的脓液，镜检含有大量多角体。

组织病变观察：核多角体病毒能侵染木毒蛾幼虫的血细胞(浆血胞)，脂肪体，中肠壁，气管上皮细胞(图版 I-3)，马氏管，神经节等组织。细胞被核多角体侵染后，病变发生于细胞核内。发病后期多角体充满于核内，胞核显得肥大，核、质界限不清，整个细胞变形，最后涨破解离，多角体游离于体腔内。据观察，木毒蛾幼虫的脂肪体、气管上皮细胞、中肠壁及神经节等组织首先产生病变。血细胞中只有个别细胞核能看到病变。马氏管只能在组织未全部液化虫尸的少数细胞中，通过染色鉴别尿素晶体沉淀物之后，才能较明显地识别多角体病变。

核多角体的形态特征：大小不一，形态不规则的多面体，直径 2.38—3.34 微米，平均 2.8 微米(图版 I-6)。在光学显微镜下，具有较强的折光性。木毒蛾核多角体病毒属杆状病毒科(Baculoviridae)杆状病毒属的 A 亚组。病毒粒子杆状，单个或成束存在，有二层膜包裹。病毒粒子 435×145 毫微米。病毒束的外膜内包含 2—4 个病毒杆(图版 I-2, 4, 5)。

核多角体病毒感染力测定：木毒蛾核多角体病毒是一种毒力较强的病原性病毒，在室温(25℃)，相对湿度 80—90% 条件下，分别用 1×10^5 ， 1×10^6 ， 1×10^7 ， 1×10^8 ， 1×10^9 多角体/毫升 5 种浓度，对 5、6 龄幼虫进行测定，每种浓度供试虫 20 头，重复三次。试验结果表明，不同浓度的多角体，对同一龄期幼虫感染力有明显差别，在所测浓度范围内，幼虫死亡率为 33.33—88.14%，随多角体浓度增高而增加。在上述测定基础上，对 6 龄幼虫进行 LC_{50} 测定，致死中浓度 LC_{50} 为 1.24×10^6 多角体/毫升。用 1×10^8 多角体/毫升一种浓度，对不同龄期幼虫进行感染试验。1—2 龄，3—4 龄，5—6 龄幼虫的死亡率分别为 63%，86.4%，94.5%，死亡率随龄期增长而升高，说明龄期愈大，对多角体的感染力愈强。这点与 Abul-Nasr (1956) 的结果相同，与黄冠辉等(1975)斜纹夜蛾核多角体病毒病的研究结果不同。

核多角体病毒在林间进行防治，幼虫死亡率往往高于室内相近浓度的死亡率(见表 1)，而且发病快。可能是林间试验过程中，笼内供饲的食料都是喷洒多角体的木麻黄小枝，未换无病毒的新鲜小枝，起连续感染作用。另外，笼内虫尸未经取出，也会达到互相感染的效果。

表 1 核多角体病毒林间感染试验

组 别	供试虫数	浓 度 (多角体/毫升)	处理方法	试验天数	防 治 效 果			
					死虫数	活虫数	死亡率 (%)	校正死亡率 (%)
处理组	58	4×10^7	喷雾	8	50	8	86.2	84.7
对照组	40	无菌水	喷雾	8	4	36	10	—

温度对核多角体毒力的影响: 核多角体病毒对温度比较稳定; 用 1×10^8 多角体/毫升的悬液, 分别以 40°C 、 60°C 、 80°C 灭活 20 分钟, 再分别对 6 龄幼虫进行感染力测定。结果表明, 40°C 处理不影响感染力, 60°C — 80°C 处理, 感染力仅降低 30—40%。

紫外线对核多角体毒力的影响: 1×10^8 多角体/毫升悬液, 以普通灭菌灯管 (30 瓦、距离 40 厘米) 分别照射 15、30、45 分钟。照射 15 分钟对 6 龄幼虫的感染力无影响, 照射 45 分钟者大部损失感染力。将同一浓度的多角体悬液, 喷洒在林间木麻黄小枝表面, 经日光曝晒 1—2 天后, 感染力亦明显下降。在林间大面积应用多角体病毒防治木毒蛾时, 采取相应措施, 减少阳光曝晒是非常重要的。

寄主专化性试验: 用 1×10^8 多角体/毫升悬液, 对油茶毒蛾 (*Euproctis pseudoconspersa*), 乌桕毒蛾 (*Euproctis bipunctapex*)、松毛虫 (*Dendrolimus punctatus*)、家蚕 (*Bombyx mori*)、菜青虫 (*Pieris rapae*) 及夜蛾科的 *Plusia* sp. 等不同科属的幼虫进行交叉感染试验, 均未获成功。

病毒的保存试验: 病毒长期贮藏能否保持致病力是当前生产上急需解决的问题。我们将用下述四种贮藏方法保存一年的病毒, 分别在室内对 3—6 龄幼虫进行感染力测定 (表 2)。试验表明以悬液贮藏杀虫效果最好, 烘干室温贮藏效果较差。

表 2 贮藏试验感染力比较*

贮藏方法*	供试虫数	浓 度 (多角体/毫升)	处理方法	试验时间	试 验 效 果			
					死虫数	活虫数	死亡率 (%)	校正死亡率 (%)
烘干(室温)	54	1×10^8	涂抹	8 天	39	15	72.2	68.2
冰冻冷藏	49	1×10^8	涂抹	8 天	38	11	86.3	84.3
普通冷藏	59	1×10^8	涂抹	8 天	51	8	86.4	84.4
悬液冷藏	58	1×10^8	涂抹	8 天	53	5	91.2	90.9
对 照	60	无菌水	涂抹	8 天	5	55	12.5	—

* 烘干室温贮藏、冰冻冷藏、普通冷藏是以新鲜病毒虫尸贮藏。悬液冷藏是病毒虫尸捣碎用无菌水配成浓多角体悬液冷藏。

流行病学的初步观察: 几年来, 我们对平潭县沿海木麻黄林木毒蛾核多角体病毒病的流行与环境条件、气候因子及虫密度等关系作了初步的探讨。根据平潭县 1974—1977 年的气象资料记载与沿海各公社木毒蛾病毒病流行区的调查, 初步看出平均日温 20°C 与相对湿度 90% 以上, 如果虫口密度大, 5 月中旬至下旬, 尤其在台风暴雨之后, 林间 5—6 龄幼虫就有可能发生病毒病的局部流行, 流行区明显地降低了来年的虫口密度。据 1977 年 5 月下旬在流行区 10×10 米的标准地调查, 老熟幼虫病毒病死亡率达 55.6%, 特别是在沿海迎风面的林缘, 单株最高的死亡率达 75% 强。

参 考 文 献

- 蔡秀玉 1965 粘虫核型多角体病毒病的研究。昆虫学报 14 (6): 534—44。
 黄冠辉、丁翠 1975 斜纹夜蛾核多角体病毒病的研究。昆虫学报 18 (1): 17—23。
 谢天恩等 1965 粘虫核型多角体病及其多角体的某些性质。昆虫学报 14 (3): 313—17。

- 中大昆虫病毒研究小组 1976 斜纹夜蛾核多角体病毒病的初步研究。中山大学学报 3: 92—7。
梁志超 1976 昆虫多角体病毒病的鉴别方法。林业科技通讯 2: 15—6。
木毒蛾研究小组 1976 木毒蛾(*Lymantria xylin* Swinhoe)的初步研究。福建林学院“林业科技资料” 2: 1—26。
Van dergeest L. P. S. 1968 A method for the purification of polyhedra. *J. Invert. pathol.* 11: 502.

STUDIES ON THE NUCLEAR POLYHEDROSIS OF *LYMANTRIA XYLINA* SWINHOE.

FOREST-PROTECTION GROUP, FUJIAN FORESTRY COLLEGE
FOREST-PROTECTION GROUP, FUJIAN FORESTRY RESEARCH INSTITUTE
FORESTRY EXTENSION STATION, PIN-TAN

The present paper deals with the results of the studies on the nuclear polyhedrosis of *Lymantria xylin*, which was tested both in the laboratory and in the woods.

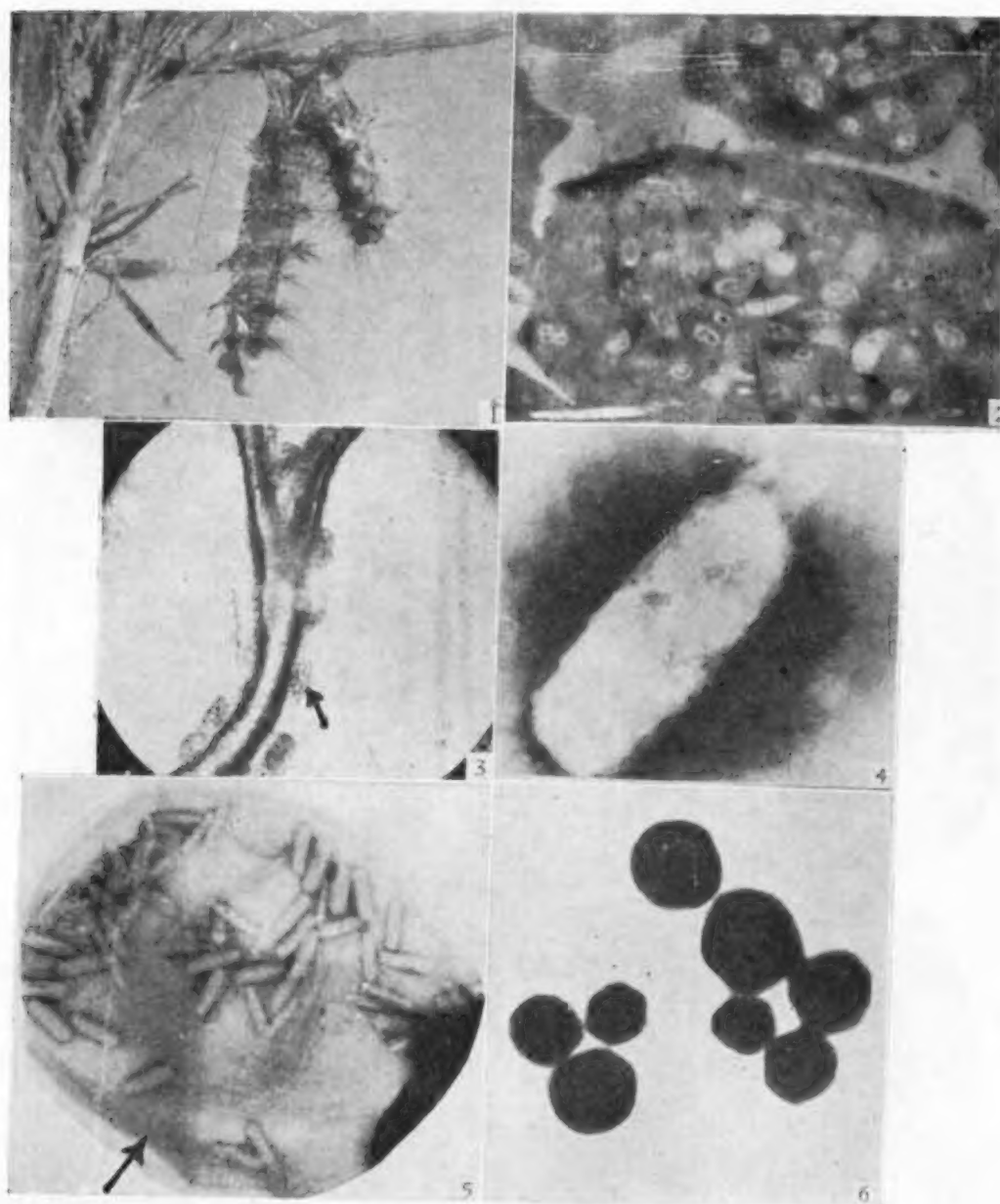
This nuclear polyhedrosis is of limited epizootic in nature. The body of dead larvae turns greyish-brown in colour. The liquefied tissues and organs turns into a mess cream in colour.

Electron microscopic investigation showed that the polyhedra are irregular in shape; their diameters ranging from 2.38μ to 3.34μ . The virus particles consist of 1 to 4 rods either single or in bundles. The size of the virus particles is $435 \times 145 \text{ m}\mu$.

Bioassay conducted in the laboratory showed that mortality of the treated larvae depends on the concentration of the virus suspension as well as the larval instar. The LC_{50} for the sixth-instar larvae at 25°C is 1.24×10^6 polyhedra/ml. The larval susceptibility increased with the advance of age, the last instar being the most susceptible.

When the 1×10^8 polyhedra/ml deposit had been on the branchlets for 1—2 days, its infectivity has decreased significantly.

The results of our study showed that both dead larvae and polyhedral suspension could be stored in the ice-box ($0-4^{\circ}\text{C}$) for one year without losing infectivity.



1. 吊挂虫尸
2. 多角体超薄切片, 示病毒粒子内含 1—4 病毒杆 15,000×
3. 气管上皮细胞的多角体 225×
4. 外膜正在溶解的病毒束 100,000×
5. 正在溶解的多角体, 箭头示残留外膜 25,000×
6. 木毒蛾核多角体 9,100×